

10/537958

JC20 Rec'd PCTO 07 JUN 2005

Docket No.: 04703/0202990-US0
(PATENT)

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Patent Application of:
Kenichi Nagamine et al.

Application No.: Not Yet Assigned

Confirmation No.: N/A

Filed: Concurrently Herewith

Art Unit: N/A

For: WHITENING AGENT, SKIN PREPARATION
FOR EXTERNAL USE AND COSMETIC

Examiner: Not Yet Assigned

AFFIRMATION OF PRIORITY CLAIM

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Dear Sir:

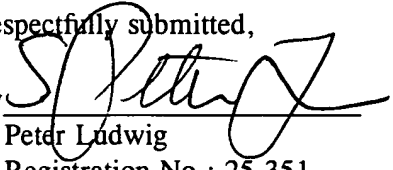
Applicant hereby claims priority under 35 U.S.C. 119 based on the following prior foreign application filed in the following foreign country on the date indicated:

| <u>Country</u> | <u>Application No.</u> | <u>Date</u> |
|----------------|------------------------|-------------------|
| Japan | 2002-362507 | December 13, 2002 |

A certified copy of the aforesaid Japanese Patent Application was received by the International Bureau on December 30, 2003 during the pendency of International Application No. PCT/JP03/15656. A copy of Form PCT/IB/304 is enclosed.

Dated: June 6, 2005

Respectfully submitted,

By 
S. Peter Ludwig
Registration No.: 25,351
(212) 527-7700
(212) 527-7701 (Fax)
Attorneys/Agents For Applicant

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

SAKAI, Hajime
Shuwa Kioicho TBR Building
7, Kojimachi 5-chome
Chiyoda-ku, Tokyo 102-0083
Japan

07 JUN 2005

| | |
|--|---|
| Date of mailing (day/month/year) 15 January 2004 (15.01.2004) | IMPORTANT NOTIFICATION |
| Applicant's or agent's file reference 10086 | |
| International application No. PCT/JP2003/015656 | |
| International publication date (day/month/year) Not yet published | |
| | International filing date (day/month/year) 08 December 2003 (08.12.2003) |
| | Priority date (day/month/year) 13 December 2002 (13.12.2002) |
| Applicant NICHIREI CORPORATION et al | |

- By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- (If applicable) An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

| <u>Priority date</u> | <u>Priority application No.</u> | <u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u> | <u>Date of receipt of priority document</u> |
|--------------------------|---------------------------------|---|---|
| 13 Dec 2002 (13.12.2002) | 2002-362507 | JP | 30 Dec 2003 (30.12.2003) |

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

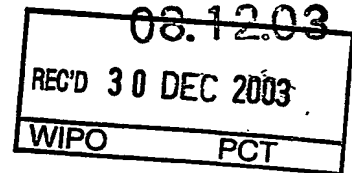
Monique BROSSE (Fax 338 7010)

Facsimile No. (41-22) 338.70.10

Telephone No. (41-22) 338 8325

10 / 537958
PCT/JP03/15656

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE



07 JUN 2005

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 2 年 1 2 月 1 3 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 2 - 3 6 2 5 0 7
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 2 - 3 6 2 5 0 7]

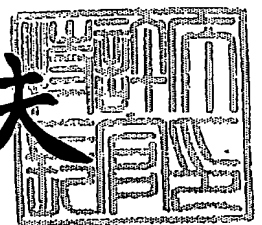
出 願 人 株式会社ニチレイ
Applicant(s):

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 3 年 1 0 月 1 4 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号 出証特 2 0 0 3 - 3 0 8 4 4 5 5

【書類名】 特許願

【整理番号】 P02-453

【提出日】 平成14年12月13日

【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

【住所又は居所】 東京都東村山市久米川町 1-52-14 株式会社ニチ
レイ バイオサイエンス開発センター内

【氏名】 永峰 賢一

【発明者】

【住所又は居所】 東京都東村山市久米川町 1-52-14 株式会社ニチ
レイ バイオサイエンス開発センター内

【氏名】 林 美希

【発明者】

【住所又は居所】 東京都東村山市久米川町 1-52-14 株式会社ニチ
レイ バイオサイエンス開発センター内

【氏名】 山崎 かおり

【特許出願人】

【識別番号】 000134970

【氏名又は名称】 株式会社ニチレイ

【代理人】

【識別番号】 100081514

【弁理士】

【氏名又は名称】 酒井 一

【選任した代理人】

【識別番号】 100082692

【弁理士】

【氏名又は名称】 蔵合 正博

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 007010

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0201808

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 美白剤、抗酸化剤、コラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤、老化防止剤、皮膚外用剤、化粧品及び食料品

【特許請求の範囲】

【請求項1】 カムカム種子の抽出物を有効成分として含む美白剤。

【請求項2】 カムカム種子の抽出物が、没食子酸及び／又はその塩を含む請求項1記載の美白剤。

【請求項3】 カムカム種子の抽出物を有効成分として含む抗酸化剤。

【請求項4】 カムカム種子の抽出物が、没食子酸及び／又はその塩を含む請求項3記載の抗酸化剤。

【請求項5】 カムカム種子の抽出物を有効成分として含むコラゲナーゼ活性阻害剤。

【請求項6】 カムカム種子の抽出物を有効成分として含むヒアルロニダーゼ活性阻害剤。

【請求項7】 カムカム種子の抽出物を有効成分として含む老化防止剤。

【請求項8】 請求項1又は2記載の美白剤、請求項3又は4記載の抗酸化剤、請求項5記載のコラゲナーゼ活性阻害剤、請求項6記載のヒアルロニダーゼ活性阻害剤、請求項7記載の老化防止剤の少なくとも1種を含むことを特徴とする皮膚外用剤。

【請求項9】 請求項1又は2記載の美白剤、請求項3又は4記載の抗酸化剤、請求項5記載のコラゲナーゼ活性阻害剤、請求項6記載のヒアルロニダーゼ活性阻害剤、請求項7記載の老化防止剤の少なくとも1種を含むことを特徴とする化粧品。

【請求項10】 請求項3又は4記載の抗酸化剤を含むことを特徴とする食料品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、カムカム種子の抽出物を有効成分とする美白剤、抗酸化剤、コラゲ

ナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤、老化防止剤、並びにこれらのいずれかを用了皮膚外用剤、化粧品及び食料品に関する。

【0002】

【従来の技術】

近年、化粧品業界や食料品業界においては、動物由来原料への人体に及ぼす不安や規制が強まり、植物由来原料への関心が一層高まりつつある。また、生体外から取り込まれたり、生体内で発生する活性酸素等の酸化反応の影響による老化促進や、紫外線による皮膚の着色や発ガン作用の問題も深刻になってきている。

例えば、化粧品や食料品の製造、加工又は貯蔵・保存中において、各種素材中に含まれる油脂類が空気中の酸素によって酸化及び過酸化されることが問題となってきた。とりわけ、油脂中に含まれるリノール酸、リノレン酸等の不飽和脂肪酸は、空気中の酸素により容易に過酸化されて、過酸化脂質やフリーラジカルを生成し、更には発癌性物質をも生成することが知られている。このような酸化及び過酸化が起こると、製品が着色、変色、変性、異臭等の外的変化或いは栄養価や有効性の低下等の質的变化が生じる。更に変性が進むと毒物の生成等が起こり製品そのものの品質の劣化を招く。

そこで、前述の不飽和脂肪酸の酸化及び過酸化を抑制し、品質の劣化を防止する為に従来から種々の抗酸化剤が用いられている。抗酸化剤は、酸化の際に生ずるペルオキシドラジカルに作用し、酸化の連鎖反応を停止させるか、若しくはフリーラジカルに作用し、酸化反応を停止させる。このような抗酸化剤としては、例えば、ブチルヒドロキシアニソール(BHA)、ブチルヒドロキシトルエン(BHT)等の合成抗酸化剤が一般的に用いられている。しかし、近年、合成抗酸化剤の使用量が増えるにつれて、人体への影響及び安全性が問題にされ、消費者の拒否反応が強くなってきている。更に、これらの合成抗酸化剤は、油溶性の為に水溶液への使用が困難である。

一方、安全性の高い天然物由来の抗酸化剤としては、例えば、天然ビタミンE(α -トコフェロール)やビタミンC等が知られている。しかし、これら天然物由来の抗酸化剤は、極端な脂溶性又は水溶性という両極の性質を有している為、その利用には自と限度が生じる。また、その活性が長時間安定的に持続しない等の欠

点もある。

従って、抗酸化活性が強く、水への溶解性に優れ、しかも抗酸化活性が長時間安定である天然物由来の抗酸化剤が強く求められている。

【0003】

皮膚の着色やシミ等の色素沈着の要因としては、生体内における代謝障害等の内因的要素と、紫外線等による外因的要素とが挙げられる。一般に多くみられるのは後者の外因的要素によるものであり、紫外線によりメラノサイトが刺激を受け、メラノサイトが活性化することによりチロシナーゼ酵素が働き、皮膚への色素沈着が生じる。このメラノサイトの活性を抑制し、チロシナーゼ酵素及びメラニン色素の生成を抑制することにより、皮膚の着色やシミ等の色素沈着が防止できることが知られている。そこで、化粧品業界においては、美白作用を有する物質の開発が従来から重要視されており、様々な美白剤が開発されている。更に、近年、オゾン層の破壊等により紫外線の量が増加しつつあり、これに伴い、消費者の紫外線対策に対する要求が更に高まり、安全で有効な美白剤が強く求められている。

【0004】

皮膚の水分保持、柔軟性、弾力性に作用する物質として、コラーゲンやヒアルロン酸などが知られている。コラーゲンは、皮膚では真皮の90%を占め、真皮全体に分布しており、皮膚に適度な弾性及び強度を保持させる。また、ヒアルロン酸は、皮膚、関節液、硝子体、靱帯など生体に広く分布しており、皮膚において、細胞の接着、細胞の保護、皮膚組織の形成、組織の水分保持、柔軟性の維持などを担っている。生体内でコラーゲンを分解する酵素としてコラゲナーゼ、ヒアルロン酸を分解する酵素としてヒアルロニダーゼが知られているが、これらによってコラーゲンやヒアルロン酸が分解されその量が減少すると、皮膚の潤い、ハリがなくなり、皮膚の老化現象であるシワやたるみが起こるといわれている。

そこで、皮膚外用剤や各種化粧料に、皮膚の老化防止やしわ防止作用等を期待してこれら酵素の活性を阻害する物質等を配合することが提案され、従来、様々なコラゲナーゼ活性阻害剤やヒアルロニダーゼ活性阻害剤が開発されている。

【0005】

ところで、カムカムの実は、アセロラの果実と同様に豊富なビタミンCを含有している植物として認識されている。そして、カムカムの果実は、南米において化粧品や食料品として市販されており、近年では日本でも食料品用素材として輸入・販売されている。また、このようなカムカムの果実に多く含まれる成分がビタミンCであるため、その抽出物においては抗酸化剤、保湿剤、美白剤としての用途が見出されている(例えば、特許文献1~5参照)。

しかし、カムカムの果実において化粧品や食料品に利用されているのは、ビタミンCを多く含む果肉のみであり、その種子は、ビタミンCを極微量しか含まないためにその有効利用の途が見出されておらず、廃棄されているのが現状である。

【0006】**【特許文献1】**

特開平9-221429号公報

【特許文献2】

特開平11-246336号公報

【特許文献3】

特開2000-327549号公報

【特許文献4】

特開2000-327550号公報

【特許文献5】

特開2001-31558号公報

【0007】**【発明が解決しようとする課題】**

従って本発明の目的は、従来、そのほとんどが廃棄処理されていたカムカム種子の有効利用が可能となり、安全性に優れ、化粧料や食料品等に利用して優れた抗酸化作用を示す抗酸化剤を提供することにある。

本発明の別の目的は、従来、そのほとんどが廃棄処理されていたカムカム種子の有効利用が可能となり、安全性に優れ、皮膚外用剤や各種化粧料等に利用して優れたコラゲナーゼ活性阻害作用、ヒアルロニダーゼ活性阻害作用、老化防止作用を示すコラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤又は老化防止剤

を提供することにある。

本発明の更に別の目的は、従来、廃棄処理されていたカムカム種子の有効利用が可能となり、安全性に優れ、皮膚外用剤や化粧品等に利用可能な美白作用を有する美白剤及び該美白剤を配合した化粧料を提供することにある。

本発明の他の目的は、安定した抗酸化作用、コラゲナーゼ活性阻害作用やヒアルロニダーゼ活性阻害作用を期待しうる安全性に優れ、皮膚の老化防止やしわ防止作用が期待しうる皮膚外用剤及び化粧料を提供することにある。

本発明の更に他の目的は、安定した抗酸化作用を期待しうる安全性に優れた食料品を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決するために、まず、従来、果汁の圧搾後、廃棄されていたカムカム種子の有用性について鋭意検討した。その結果、カムカム種子から得られる抽出物が、化粧料用途及び食料品用途等に利用可能な、強力な抗酸化作用、美白作用、コラゲナーゼ活性阻害作用、ヒアルロニダーゼ活性阻害作用、更には老化防止作用を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

すなわち本発明によれば、カムカム種子の抽出物を有効成分として含む美白剤、抗酸化剤、コラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤又は老化防止剤が提供される。

また本発明によれば、前記美白剤、前記抗酸化剤、前記コラゲナーゼ活性阻害剤、前記ヒアルロニダーゼ活性阻害剤、前記老化防止剤の少なくとも1種を含むことを特徴とする皮膚外用剤又は化粧料が提供される。

更に本発明によれば、前記抗酸化剤を含むことを特徴とする食料品が提供される。

【0009】

【発明の実施の形態】

以下本発明を更に詳細に説明する。

本発明の美白剤、抗酸化剤、コラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤又は老化防止剤の有効成分の原料として用いるカムカム種子は、フトモモ

科(Myrtaceae)ジャボチカバ属(Myrciaria)の果樹であるカムカム(CAMU CAMU、学名Myrciaria dubia)の種子である。

前記カムカムは、中南米熱帯雨林地域の河流付近の湿地帯に生育し、高さ2~3mで、直径2~3cmの赤い実を結ぶ灌木である。カムカムの実は、豊富なビタミンCが含まれるが、カムカム種子は、ビタミンCが実質的に含まれておらず、その用途が見出せないために、従来、廃棄処理されてきた。

実験の結果、カムカム果実の抽出物中には、通常、ビタミンCが1789mg/100g(還元型ビタミンC:1485mg/100g+酸化型ビタミンC:295mg/100g)含まれるのに対して、カムカム種子の抽出物中には、通常、ビタミンCが1mg/100g(還元型ビタミンC:0mg/100g+酸化型ビタミンC:1mg/100g)が含まれるにすぎない。

【0010】

本発明の美白剤、抗酸化剤、コラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤及び老化防止剤は、カムカム種子の抽出物を有効成分として含む。カムカム種子の抽出物は、カムカム種子を、抽出溶媒を用いて抽出したものであれば特に限定されず、抽出液であっても、抽出液を濃縮、乾燥等により得られる抽出固形物であっても良い。抽出は1回の抽出操作でも良いが、所望に応じて他の溶媒を用いて抽出操作を複数回行うこともできる。

前記カムカム種子の抽出物は、没食子酸及びその塩を含むように抽出することが好ましい。

【0011】

前記抽出溶媒は、例えば、水、有機溶媒が挙げられ、該有機溶媒は、親水性有機溶媒、疎水性有機溶媒のいずれでもよい。親水性有機溶媒としては、例えば、メチルアルコール、エチルアルコール、グリセリン、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール等のアルコール；アセトン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、1,4-ジオキサン、ピリジン、ジメチルスルホキシド、N,N-ジメチルホルムアミド、酢酸等の公知の有機溶媒が挙げられる。疎水性有機溶媒としては、例えば、ヘキサン、シクロヘキサン、四塩化炭素、クロロホルム、ジクロロメタン、1,2-ジクロロエタン、ジエチルエーテル、酢酸エチル、ベンゼン、トルエン等の公知の有機溶媒が挙げられる。これらの有機溶媒は使用に際しては1種又は2

種以上を組み合わせる用いることができる。中でも、水及び／又は親水性有機溶媒、特に、メタノール、エタノール、1,3-ブチレングリコール、水又はこれらの混合物や組合せが好ましい。

【0012】

抽出条件は特に限定されないが、例えば、温度は5～95℃、好ましくは10～90℃、更に好ましくは15～85℃で、常温でも好適に抽出できる。温度が高い方が、抽出効率が高くなる傾向がある。抽出時間は、数時間～数日間であり、また、抽出に使用する溶媒量は、原料に対して質量比で通常1～50倍量、好ましくは5～25倍量である。

抽出操作も特に限定的ではなく、常法に従って行えばよい。抽出効率を向上させるため、振とう抽出や、攪拌機等を備えた抽出機を用いても抽出することができる。例えば、カムカム種子を抽出溶媒に浸漬するか、若しくは浸漬せずに、抽出溶媒と共に攪拌、振とうする抽出処理を行い、処理液を、濾過、遠心分離又はデカンテーション等によって抽出液と抽出残渣に分離することにより抽出処理を行うことができ、抽出残渣は更に同様な抽出処理に付しても良い。得られる抽出液はそのまま用いても良いが、必要により、更に濃縮処理及び／又は分画・精製処理することもできる。

【0013】

前記濃縮処理は特に限定されず、例えば、溶媒除去、水及び／又は有機溶媒に対する溶解性を利用した可溶分回収処理、不溶分回収処理、水-疎水性有機溶媒での液液分配処理、再結晶処理、再沈澱処理、冷却により生じた析出物を回収する処理等、若しくはこれらから選択される2種以上の処理を組合せる方法等が挙げられる。

前記分画・精製処理も特に限定されず、例えば、順相及び／又は逆相クロマトグラフィーによる処理等が挙げられる。

【0014】

本発明の美白剤及び抗酸化剤の有効成分としてのカムカム種子の抽出物は、没食子酸及び／又はその塩を含むことが好ましい。また、本発明のコラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤又は老化防止剤の有効成分としてのカム

カム種子の抽出物が、没食子酸及び／又はその塩を含んでいても良い。

本発明の美白剤、抗酸化剤、コラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤又は老化防止剤において、有効成分であるカムカム種子の抽出物の使用量は、使用形態等により適宜選択することができる。

【0015】

本発明の皮膚外用剤及び化粧料は、前記本発明の美白剤、抗酸化剤、コラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤、老化防止剤の少なくとも1種を含んでおれば良い。また、前記化粧料の種類は特に限定されず、例えば、化粧水、乳液、クリーム、パック、洗浄料等のスキンケア化粧料；口紅、ファンデーション等のメーキャップ化粧料；頭髮用化粧料等が挙げられ、その剤型は特に制限されず任意である。また、皮膚外用剤としては、軟膏、各種皮膚用薬剤等が挙げられる。

本発明の皮膚外用剤及び化粧料において、本発明の美白剤、抗酸化剤、コラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤又は老化防止剤の配合割合は、その種類及び配合される他の成分の種類や量、形態等に応じて適宜選択できるが、通常、皮膚外用剤又は化粧料全量に対して、カムカム種子抽出物の乾燥物換算で0.001～20質量%、好ましくは0.01～10質量%である。

【0016】

本発明の皮膚外用剤及び化粧料には、本発明の所望の効果を損なわない範囲で、通常、化粧料原料として用いられる種々の他の成分を配合することができる。他の成分としては、例えば、水、油剤、界面活性剤、潤滑剤、アルコール類、水溶性高分子剤、ゲル化剤、保湿剤、緩衝剤、防腐剤、抗炎症剤、増粘剤、香料、ビタミン類、本発明の美白剤、抗酸化剤、コラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤又は老化防止剤以外の美白剤、抗酸化剤、コラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤又は老化防止剤等を挙げることができ、使用に際しては、皮膚外用剤、化粧料の種類や他の目的、更にはその形態等に応じて適宜選択して配合することができる。

【0017】

本発明の食料品は、前記本発明の抗酸化剤を含んでおれば良く、食料品の種類

は特に限定されず、例えば、飴、飲料、ジャム、チューインガム等が挙げられる。また、その剤型は特に制限されず任意である。

本発明の食料品において、本発明の抗酸化剤の配合割合は、食料品の種類及び該食料品に配合される他の成分の種類や量に応じて適宜選択することができるが、通常、食料品全量に対して、カムカム種子抽出物の乾燥固形分として0.001～10質量%、好ましくは0.01～8質量%である。

【0018】

本発明の食料品には、本発明の所望の効果を損なわない範囲で、通常、食料品原料として用いられる種々の他の成分を配合することができる。他の成分としては、例えば、水、アルコール類、甘味料、酸味料、着色料、保存料、香料、賦形剤等が挙げられ、使用に際しては、食料品の種類や他の目的、更にはその形態等に応じて適宜選択して配合することができる。

【0019】

【実施例】

以下、本発明を実施例により更に詳細に説明するが本発明はこれらに限定されない。

実施例1

粉碎したカムカム種子にメタノールを入れて、25℃、一晚攪拌抽出を行った。5℃、4000rpm、45分間の遠心分離を行い、粗濾過後、0.22 μ mフィルター濾過した。得られたカムカム種子メタノール抽出液を減圧蒸留して蒸発乾固させ、乾固物を精製水で溶解した。これにn-ヘキサンを加え5分間振盪と静置を繰り返し、n-ヘキサンと水溶性画分に分け、n-ヘキサン画分が着色しなくなるまで行った。得られた水溶性画分に酢酸エチルを加えて、n-ヘキサンの時と同様の方法にて分画を行い、酢酸エチル画分と水溶性画分に分けた。酢酸エチル画分を減圧蒸留により濃縮し、これをシリカゲルカラムにより分画を行った。溶出は、濃度比率を11段階(10:0～0:10)に調整したクロロホルム/メタノール混合液によって行った。濃度比率が5:5～0:10のクロロホルム/メタノール混合液で溶出された画分をまとめ、減圧蒸留により蒸発乾固させ、乾固物を精製水で溶解した。

次にこの水溶物を、C18カラムにより精製した。精製は、上記方法によって得

られた水溶物をC18カラムに添加し、更に精製水でカラム洗浄して得た未吸着の画分を、蒸発乾固させる方法で行った。未吸着の画分は、始めに着色した画分が得られ、次いで透明な画分の2タイプの画分が得られた。それぞれ減圧蒸留により蒸発乾固させて、水に易溶性であるサンプル(A)及び水に難溶性であるサンプル(B)を得た。

【0020】

LCMS分析は、LCT質量分析計(micromass社製)を使用し、イオン化法(ESI)で測定を行った。NMR分析は、UNITY plus 500型(Varian社製)を使用し、観測周波数を ^1H :500.2MHz、 ^{13}C :125.8MHzとし、溶媒はサンプル(A)では D_2O を、サンプル(B)では CD_3OD を用いた。

サンプル(A)のLCMS分析の結果、脱プロトン化分子($(\text{M}-\text{H})^-$)と考えられるイオンが m/z 169に観測され、分子量は170と推測された。また、NMR分析の結果、 ^1H -NMRスペクトルでは、7.062ppmにシングルピークと3.5~3.9ppmに数種類のピークが観測され、 ^{13}C -NMRスペクトルでは、110~146ppmに4種類の二重結合炭素、175.8ppmにカルボニル炭素が観測された。これらを没食子酸(Gallic Acid)標品のスペクトルと比較した結果、分子量は一致したが、 COOH と COOH が結合する炭素の化学シフトが異なることから、この物質は没食子酸塩であると同定された。

一方、サンプル(B)のLCMS分析の結果、脱プロトン化分子($(\text{M}-\text{H})^-$)と考えられるイオンが m/z 169に観測され、分子量は170と推測された。また、NMR分析の結果、 ^1H -NMRスペクトルでは、7.060ppmにシングルピークが観測され、 ^{13}C -NMRスペクトルでは、5種類のピークが観測された。これらを没食子酸標品のスペクトルと比較した結果、化学シフトが一致し、分子量も一致したことから、この物質は没食子酸であると同定された。

【0021】

得られた抽出物(B)について抗酸化活性を以下の方法に従って測定した。

<DPPHラジカル消去能測定試験>

試験管に抽出物(B)400 μl 、99.5%エタノール1200 μl 、0.25M 酢酸緩衝液(pH 5.5)1600 μl を入れ、30℃、5分間ブレインキュベートした。試験管に500 μM DPPH溶液を800 μl 加えて攪拌し、30℃、30分間反応させ、正確に30分後、蒸留水を

対照として517nmで吸光度を測定した。測定値からDPPHラジカル消去率を算出し、50%ラジカル消去能(IC₅₀)を求めた。また、既知の抗酸化成分である α -トコフェロールについても同様にDPPHラジカル消去能について測定を行った。結果を図1に示す。

図1より、本発明のカムカム種子抽出物の50%DPPHラジカル消去能(以下IC₅₀)は、蒸発残留物値換算よりIC₅₀=0.06mg/gであり、既知の抗酸化成分である α -トコフェロールのIC₅₀=0.13mg/gと比較して、高いDPPHラジカル消去能を有することが判明した。

【0022】

実施例2

カムカム種子1kgを破碎し、水4kgを加えて、室温にて一晚以上攪拌抽出した。攪拌抽出後、遠心分離を行って上清と粗残渣とに分離し、残渣を取り除き上清のみを採取した。更に清澄化する為に多段階のフィルター濾過を行い、細かい残渣を取り除いた。以上の手順により、清澄な水溶性のカムカム種子抽出物を約4kg(固形分1%)得た。この抽出物を抽出物(C)とする。

得られた抽出物(C)について、実施例1と同様にDPPHラジカル消去能測定試験を行った。また、既知の抗酸化成分である α -トコフェロールについても同様にDPPHラジカル消去能について測定を行った。結果を図2に示す。図2より、抽出物(C)のIC₅₀は0.10mg/gであった。 α -トコフェロールのIC₅₀は0.13mg/gであった。

【0023】

実施例3

カムカム種子1kgを破碎し、水1.17kgと1,3-ブチレングリコール0.5kgとの混合溶媒を加えて、室温にて一晚以上攪拌抽出した。攪拌抽出後、遠心分離を行って上清と粗残渣に分離し、残渣を取り除き上清のみを採取した。更に清澄化する為に多段階のフィルター濾過を行い、細かい残渣を取り除いた。以上の手順により、30%の1,3-ブチレングリコール抽出による清澄なカムカム種子抽出物を約1.3kg(固形分3%)得た。この抽出物を抽出物(D)とする。

得られた抽出物(D)について、実施例1と同様にDPPHラジカル消去能測定試験を行った。結果を図2に示す。図2より、抽出物(D)のIC₅₀は0.07mg/gであった。

【0024】

実施例4

カムカム種子200gを破碎し、エタノール2kgを加えて、室温にて一晩以上攪拌抽出した。攪拌抽出後、フィルターによる粗濾過を行って残渣を取り除き上清のみを採取した。次に、減圧蒸留を行いエタノールを除去した。乾固させたものに水500gを加えて溶解し、清澄化する為に多段階のフィルター濾過を行った。以上の手順により、エタノール抽出による水溶性の清澄なカムカム種子抽出物を約500g(固形分2.5%)得た。この抽出物を抽出物(E)とする。

得られた抽出物(E)について、実施例1と同様にDPPHラジカル消去能測定試験を行った。結果を図2に示す。図2より、抽出物(E)のIC₅₀は0.10mg/gであった。

【0025】

実施例5

実施例3で調製した抽出物(D)を用い、以下に示すリノール酸自動酸化抑制能測定試験を行った。

<リノール酸自動酸化抑制能測定試験>

2.5% (w/v) リノール酸を含むエタノール2mlと、0.05Mリン酸緩衝液(pH7.0) 4mlとを混合し反応液を調製した。次に、抽出物(D)が任意量含まれるように、99.5%エタノール2ml及び蒸留水2mlを用いて希釈調整した。調整した希釈物を前記反応液に添加して計10mlとし、混和後、褐色ネジ口瓶に入れてサンプルとした。

また、陰性コントロールとしては何も添加せず、99.5%エタノール2ml及び蒸留水2mlのみを反応液に添加したサンプルを用いた。陽性コントロールとしては、 α -トコフェロール及びBHAを抽出物(D)と同様の操作方法で同濃度に調製したサンプルを用いた。更に、抽出物(D)の抗酸化作用が、上述したカムカム種子の抽出物に含まれる没食子酸によるもののみでないことを確認するために、没食子酸を抽出物(D)と同様の操作方法で以下に示す濃度に調製したサンプルを用いた。

没食子酸の濃度は、抽出物(D)に含まれていると思われる最大量を用いて行った。

即ち、抽出物(D)中のポリフェノール量をフォリナーデニス法により測定した。

抽出物(D)に対して、ポリフェノールの占める割合は約20%という結果が得られた。没食子酸はポリフェノールの一種である為、例えば、抽出物(D)中のポリフェノールの全量が没食子酸であったとしても、抽出物(D)に占める最大値は約20%ということになり、これ以上高い濃度で没食子酸が含まれる可能性は限りなく低いと考えられる。従って、抽出物(D)中に含まれる没食子酸の濃度を20%と推定した。

【0026】

調製した各サンプルを40℃、暗所で保存したものを本検、4℃、暗所で保存したものを盲検として、経時的に7日間測定した。

測定方法としては、サンプル0.1ml、75%エタノール9.7ml、30%ロダンアンモニウム溶液0.1mlを混合し、 2×10^{-2} M塩化第一鉄(3.5%塩酸溶液)0.1mlを加え、正確に3分後に500nmで吸光度を測定した。測定値から吸光度差及び7日目の自動酸化率を求めた。盲検についても同様に測定し、 Δ 吸光度=(本検の吸光度)-(盲検の吸光度)とした。結果を図3に示す。

サンプルの酸化が始まると吸光度は上昇し、最高点に達した後、酸化されるべきサンプルが少なくなるにつれて吸光度は減少する。従って、吸光度のピークが早くできはじめるほど抗酸化活性は弱いと判断できる。

測定した酸化率を用いて各サンプルの抗酸化活性を比較した。酸化率は、試験開始から7日間経過した時のコントロールの酸化(吸光度)を100%として以下の式で算出した。結果を図4に示す。

リノール酸自動酸化率(%) = $\frac{[\text{サンプルの} \Delta \text{吸光度}]}{[\text{コントロールの} \Delta \text{吸光度}]} \times 100$

図4において酸化率は、数値が高いほど抗酸化活性が低いと判断できることから、抽出物(D)は、非常に高い抗酸化活性を有していると結論づけられる。

【0027】

実施例6

実施例1で調製した抽出物(D)を用いて、マウス由来B16メラノーマ細胞を使用し、細胞レベルでの美白効果の確認試験を行った。この試験法は、動物細胞を使用することにより、生体内により近い環境下でメラニン色素の生成抑制作用及び

細胞増殖に与える影響を確認することができる。

シャーレにマウス由来B16メラノーマ細胞を 1×10^5 cells/dish播き込み、37℃、5%CO₂条件下で2日間培養した。培養液を除去後、各試験培地(ブランク培地(10%FBS/DME)、既知の美白成分を比較対照としたコウジ酸調整培地、カムカム種子抽出物である抽出物(D)調整培地)を各々10ml/dishずつ加え、更に37℃、5%CO₂条件下で3日間培養した。培養液を除去後、トリプシン溶液で細胞を剥がして遠心分離を行い、PBSに懸濁後、再度遠心分離を行った。上清を除いた細胞ペレットに水酸化ナトリウム溶液を加え、加熱処理を行い、メラニン色素を溶解し、更に細胞由来の線維状物質をフィルター除去した。吸光度計にて溶解したメラニン色素の測定とBIO-RAD社DC-Protein Assay KITを用いた蛋白量の測定を行った。

【0028】

ブランク培地をコントロールとして用い、そのメラニン生成抑制率を0%とした時の、各サンプルのメラニン色素生成抑制率を以下の式で算出した。結果を図5に示す。

メラニン色素生成抑制率(%) = $100 - ([\text{サンプルの総蛋白} 1\text{mg当りのメラニン量の平均値}] \div [\text{コントロールの総蛋白} 1\text{mg当りのメラニン量の平均値}]) \times 100$

図5においてメラニン色素生成抑制率は、数値が高いほど美白活性が高いといえることから、カムカム種子抽出物である抽出物(D)は、非常に高い美白活性を有していることが判った。

また、総蛋白量は細胞数と比例する為、各試験培地の総蛋白量を測定し、細胞増殖に与える影響についての確認を行った。結果を図6に示す。

図6より、各サンプルの細胞増殖に与える影響について、問題は認められなかった。更に、顕微鏡観察下においても問題が認められなかった。

【0029】

実施例7

平成9年3月26日付厚生省令第21号「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」に従って実施例3で調製したカムカム種子抽出物(D)の安全性試験を行なった。結果を表1に示す。

ラットを用いる単回経口投与毒性試験

ラット2群(対照群、投与群)に対して、雌雄各5匹/群にて試験を行い、投与群には体重あたり2g/kg投与した。

モルモットを用いる皮膚一次刺激性試験

モルモット3匹の健常皮膚に24時間閉塞貼付を行い、除去後24時間、48時間及び72時間に、それぞれ皮膚の状態を観察して判定を行った。

モルモットを用いる14日間皮膚累積刺激性試験

モルモット3匹の健常皮膚に、14日間連続の開放系で1日1回塗布を行い、試験期間中の毎日、塗布前及び塗布後24時間に、それぞれ皮膚の状態を観察して判定を行った。

モルモットを用いる皮膚感作性試験

モルモット3群(対照群、塗布群、DNCB群)に対して、5匹/群にてAdjuvant and Patch Test法に準じて試験を行い、塗布後24時間及び48時間に、それぞれ皮膚の状態を観察して判定を行った。

モルモットを用いる皮膚光毒性試験

モルモット10匹の背部皮膚に森川藤鳳らの方法に準じて試験を行い、紫外線照射後24時間、48時間及び72時間にそれぞれ皮膚の状態を観察して判定を行った。

【0030】

モルモットを用いる皮膚光感作性試験

モルモット3群(対照群、投与群、TCSA群)に対して、5匹/群にてAjuvant and Strip法に準じて試験を行い、紫外線照射後24時間及び48時間に、それぞれ皮膚の状態を観察して判定を行った。

ウサギを用いる眼粘膜刺激性試験

ウサギ2群(非洗眼群、洗眼群)に対して、3匹/群にて試験を行った。点眼後、非洗眼群はそのままにし、洗眼群は微温の生理食塩水で約1分間洗浄し、その後1時間、24時間、48時間及び72時間後に、角膜、虹彩及び結膜の状態について観察し、AFNORの区分から判定を行った。

細菌を用いる復帰突然変異試験

プレインキュベーション法により、S9mix無添加とS9mix添加の場合について測

定を行った。

・使用菌株：Salmonella typhimurium TA100、TA98、TA1535、TA1537

・使用菌株：Escherichia coli WP2uvrA

哺乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験

哺乳類の培養細胞(CHL/IU細胞)を用いて3群(陰性対照群、被検物質群、陽性対照群)に対して、短時間処理法(6時間処理：S9mix無添加及びS9mix添加)及び連続処理法(24時間及び48時間処理)で検討を行った。

【0031】

【表1】

| 安全性試験項目 | 結果 |
|--------------------------|--------|
| 1)ラットを用いる単回経口投与毒性試験 | 毒性なし |
| 2)モルモットを用いる皮膚一次刺激性試験 | 刺激性なし |
| 3)モルモットを用いる14日間皮膚累積刺激性試験 | 刺激性なし |
| 4)モルモットを用いる皮膚感作性試験 | 感作性なし |
| 5)モルモットを用いる皮膚光毒性試験 | 光毒性なし |
| 6)モルモットを用いる皮膚光感作性試験 | 光感作性なし |
| 7)ウサギを用いる眼粘膜刺激性試験 | 眼刺激性なし |
| 8)細菌を用いる復帰突然変異試験 | 変異原性なし |
| 9)哺乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験 | 異常なし |

【0032】

実施例8

実施例2で調製した抽出物(C)、実施例3で調製した抽出物(D)及び実施例4で調製した抽出物(E)について、比較対照に没食子酸一水和物を用いて以下の方法によりコラゲナーゼ活性阻害作用を測定した。

<コラゲナーゼ活性阻害作用試験>

〔試薬の調製〕

基質溶液：Pz-ペプチド(BACHEM社製)0.39mgを、0.1Mトリス塩酸緩衝液(pH7.1、含20mM塩化カルシウム)1mlに溶解して使用した(0.5Mに相当)。

酵素溶液：コラゲナーゼ (TYPE IV、シグマ社製)5mgを蒸留水1mlに溶解させ100 μ lずつ分注し、-20℃で保管した。使用時に蒸留水で50倍に希釈して反応に用

いた。

抽出物(C)、抽出物(D)及び抽出物(E)は溶液であることから、カムカム種子抽出物が乾燥固形物として $100\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度となるように各々の抽出溶媒(蒸留水、30質量%1,3-ブチレングリコール)で希釈を行いサンプルとした。このサンプル $50\mu\text{l}$ に酵素溶液 $50\mu\text{l}$ 及び基質溶液 $400\mu\text{l}$ を混合し、 37°C で30分間反応させた。次いで、 25mM クエン酸溶液 1ml で反応を停止し、酢酸エチル 5ml で抽出した。遠心分離(3000rpm 、10分間)後、酢酸エチル層を分取した。酢酸エチルを対照として 320nm における吸光度を測定した。

コントロールにはサンプルの代わりに各々の抽出溶媒を用い、ブランクには酵素溶液の代わりに蒸留水を用いて同様の操作を行った。

【0033】

この時に、カムカム種子抽出物のコラゲナーゼ活性阻害が、カムカム種子抽出物に含まれる没食子酸によるもののみでないことを確認する為に、没食子酸一水和物を各抽出物と同様の $100\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度となるように、蒸留水で濃度調整を行いサンプルとした。

これらの値からコラゲナーゼ活性阻害率を以下の式で算出した。結果を図7に示す。

コラゲナーゼ活性阻害率(%) = $(1 - [\text{サンプルの吸光度} - \text{サンプルブランクの吸光度}] \div [\text{コントロールの吸光度} - \text{コントロールブランクの吸光度}]) \times 100$

【0034】

実施例9

実施例3で調製した抽出物(D)について、比較対照に没食子酸一水和物を用いて以下の方法によりヒアルロニダーゼ活性阻害作用を測定した。ヒアルロニダーゼ活性阻害測定はMorgan-Elson法を応用した前田有美恵らの方法(食衛誌、31巻、233-237、1990年)に準じて行った。

<ヒアルロニダーゼ活性阻害作用試験>

[試薬の調製]

酵素溶液：牛精巢ヒアルロニダーゼ(和光純薬工業(株)製)を 0.1M 酢酸緩衝液($\text{pH}=4.0$)に溶解し最終酵素活性を $400\text{ユニット}/\text{ml}$ に調整した。

酵素活性化溶液: compound 48/80 (シグマ社製) を0.1M酢酸緩衝液(pH=4.0)に溶解し最終濃度を0.1mg/mlに調整した。

基質溶液: ヒアルロン酸カリウム(和光純薬工業(株)製)を0.1M酢酸緩衝液(pH=4.0)に溶解し最終濃度を0.4mg/mlに調整した。

ホウ酸溶液: ホウ酸4.95gに水50mlを加え、1N水酸化ナトリウム溶液でpH=9.1にし、蒸留水を加えて100mlに調整した。

p-ジメチルアミノベンズアルデヒド(p-DAB)試薬: 10N塩酸12.5mlと酢酸87.5mlの混液にp-DAB(和光純薬工業(株)製)を10g溶解し冷蔵保存する。使用直前に酢酸で10倍希釈して用いた。

【0035】

実施例3の抽出物(D)は溶液であることから、カムカム種子抽出物が乾燥固形物として1mg/mlの濃度となるように抽出溶媒である30質量%1,3-ブチレングリコール水溶液で希釈したものを上限とし、更に抽出溶媒で希釈して濃度調整を行いサンプルとした。このサンプル0.2mlに酵素溶液0.1mlを加えて、37℃で20分間加温した。次に酵素活性化溶液0.2mlを加えて37℃で20分間加温し、さらに基質溶液0.5mlを加えて37℃で40分間反応させた後、0.4Nの水酸化ナトリウム水溶液を0.2ml加えるとともに氷冷して反応を停止させた。ホウ酸溶液0.2mlを加えてホットブロックバス(TOYO SEISAKUSHO、MODEL TPB-32)で5分間加熱後氷冷し、p-DAB試薬6mlを加えて37℃で20分間加温して発色させ、蒸留水を対照として585nmにおける吸光度を測定した。

コントロールにはサンプルの代わりに抽出溶媒を用い、ブランクには酵素溶液の代わりに0.1M酢酸緩衝液(pH=4.0)を加えて同様の操作を行った。

この時に、抽出物(D)のヒアルロニダーゼ活性阻害が、カムカム種子抽出物に含まれる没食子酸によるもののみでないことを確認する為に、没食子酸一水和物を抽出物(D)と同様の操作方法で濃度調整を行った。この時の没食子酸一水和物の濃度は、実施例5と同様にカムカム種子抽出物の乾燥固形分量の20%と推定した。

これらの値からヒアルロニダーゼ活性阻害率を以下の式で算出した。結果を図8に示す。

ヒアルロニダーゼ活性阻害率(%)=(1-[サンプルの吸光度-サンプルブランクの吸光度]÷[コントロールの吸光度-コントロールブランクの吸光度])×100

図8より、抽出物(D)は濃度依存的にヒアルロニダーゼ活性阻害能を有することが判明した。

【0036】

処方例1

グリチルリチン酸ジカリウム0.20質量部、クエン酸0.10質量部、クエン酸ナトリウム0.30質量部、実施例3で調製した抽出物(D)5.00質量部及び1,3-ブチレングリコール5.00質量部を混合して、精製水を加えて全体量を80.0質量部にして50℃で攪拌しながら溶解して抽出物(D)含有水溶液を調製した。

次いで、テトラオレイン酸POE(60)ソルビトール0.90質量部、モノオレイン酸ソルビタン0.10質量部、適量の防腐剤及びエタノール10.00質量部を混合して、50℃で攪拌しながら溶解した。続いて、得られた溶液を、最初に調製した抽出物(D)含有水溶液に少量ずつ加えて、50℃で混和攪拌した。均一に混和したら、更に攪拌しながら50℃から30℃に液温を下げ、30℃になったところで攪拌を止め、適量の香料及び精製水を加えて全体量を100.00質量部にした。再度、混和攪拌し、均一に混和させて化粧水を調製した。

【0037】

処方例2

スクワレン10.00質量部及び適量の防腐剤を混合し、精製水を加えて全体量を70.00質量部に調整し、80℃に加熱して溶液(1)を調製した。また、カルボキシビニルポリマー0.10質量部及びキサントガム0.20質量部を適量の精製水に常温で攪拌溶解し溶液(2)を調製した。更に、トリエタノールアミン0.10質量部及び1,3-ブチレングリコール5.00質量部を適量の精製水に常温で攪拌溶解し溶液(3)を調製した。更にまた、ヒアルロン酸ナトリウム2.00質量部及び実施例3で調製した抽出物(D)5.00質量部を適量の精製水に常温で攪拌溶解し溶液(4)を調製した。

次いで、適量の精製水に溶液(1)を少量ずつ加え、80℃で混和攪拌し、更に攪拌しながら溶液(2)を加え、続いて溶液(3)を加えた。均一に混和したら、攪拌しながら溶液を50℃に下げて、50℃になったところで、溶液(4)を加え、更に精製

水を加えて全体量を100質量部に調整した。溶液が30℃になるまで再度攪拌し、30℃になったところで攪拌を止め、均一に混和された乳液を調製した。

【0038】

処方例3

POE(20)ソルビタンモノステアレート2.00質量部、POEソルビタンテトラオレエート0.50質量部、モノステアリン酸グリセリル0.50質量部、ステアリン酸7.00質量部、セチルアルコール3.00質量部、パルミチン酸セチル3.00質量部、ホホバ油7.00質量部、パラフィン3.00質量部及び適量の防腐剤を混合して、80℃で攪拌しながら溶解し溶液(1)を調製した。一方、実施例3で調製した抽出物(D) 5.00質量部、1,3-ブチレングリコール7.00質量部及び精製水62質量部を混合して、80℃で攪拌しながら溶解し溶液(2)を調製した。

次いで、溶液(2)に溶液(1)を少量ずつ加え、乳化し、攪拌しながら冷却して40℃に降温したところで攪拌を止め、均一に混和されたクリームを調製した。

【0039】

処方例4

グラニュー糖54.00質量部を適量の精製水に溶解し、続いて、該溶解物を水飴41.70質量部に混合して加熱して煮詰めた。次いで、均一に混合攪拌しながら、クエン酸1.00質量部及び香料0.30質量部を少しずつ加え、攪拌しながら90℃まで冷却後、実施例2で調製した抽出物(C)3.00質量部を加えて攪拌した。得られた均一混和物を常法により成型し、キャンディーを調製した。

【0040】

処方例5

イチゴ果実65.00質量部に砂糖32.00質量部を少しずつ加え、攪拌しながら加熱して煮詰めた。糖濃度が65%以上になったところで加熱を止め、実施例2で調製した抽出物(C)2.50質量部、クエン酸0.15質量部及び適量の香料を加えて、均一に混和した。得られた濃縮液が熱いうちに瓶に詰め殺菌し、急速冷却することによってジャムを調製した。

【0041】

【発明の効果】

本発明の美白剤、抗酸化剤、コラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤及び老化防止剤は、カムカム種子の抽出物を有効成分とするので、強力な抗酸化活性、メラニン色素生成抑制作用、コラゲナーゼ活性阻害作用、ヒアルロニダーゼ活性阻害作用及び老化防止作用を示すと共に安全性にも優れる。従って、美白効果や抗老化作用を期待して皮膚外用剤や化粧品に、また活性酸素に起因する食料品の品質保持や酸化防止作用を期待して食料品への利用が可能である。加えて、従来、産業廃棄物であったカムカム種子の有効利用をも可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

実施例1で行ったDPPHラジカル消去能測定試験の結果を示すグラフである。

【図2】

実施例2～4で行ったDPPHラジカル消去能測定試験の結果を示すグラフである。

【図3】

実施例5で行ったリノール酸自動酸化抑制能測定試験の結果を示すグラフである。

【図4】

実施例5で行ったリノール酸自動酸化抑制能測定試験における各サンプルの7日目の酸化率を示すグラフである。

【図5】

実施例6で行ったメラニン色素生成抑制試験の結果を示すグラフである。

【図6】

実施例6で行った各培地における総蛋白質量を測定した結果を示すグラフである。

【図7】

実施例8で行ったコラゲナーゼ活性阻害作用試験の結果を示すグラフである。

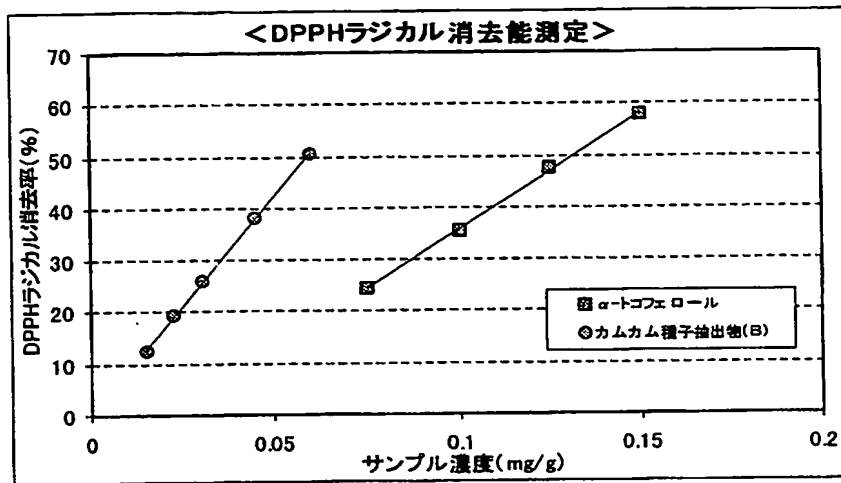
【図8】

実施例9で行ったヒアルロニダーゼ活性阻害作用試験の結果を示すグラフである。

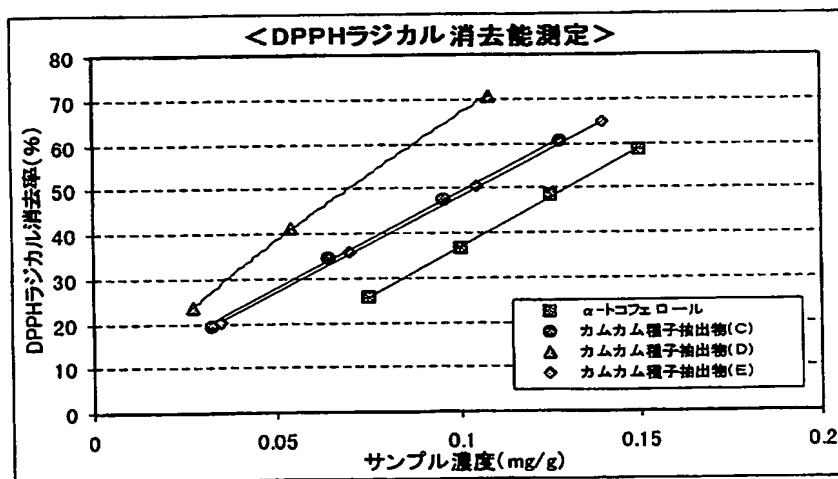
【書類名】

図面

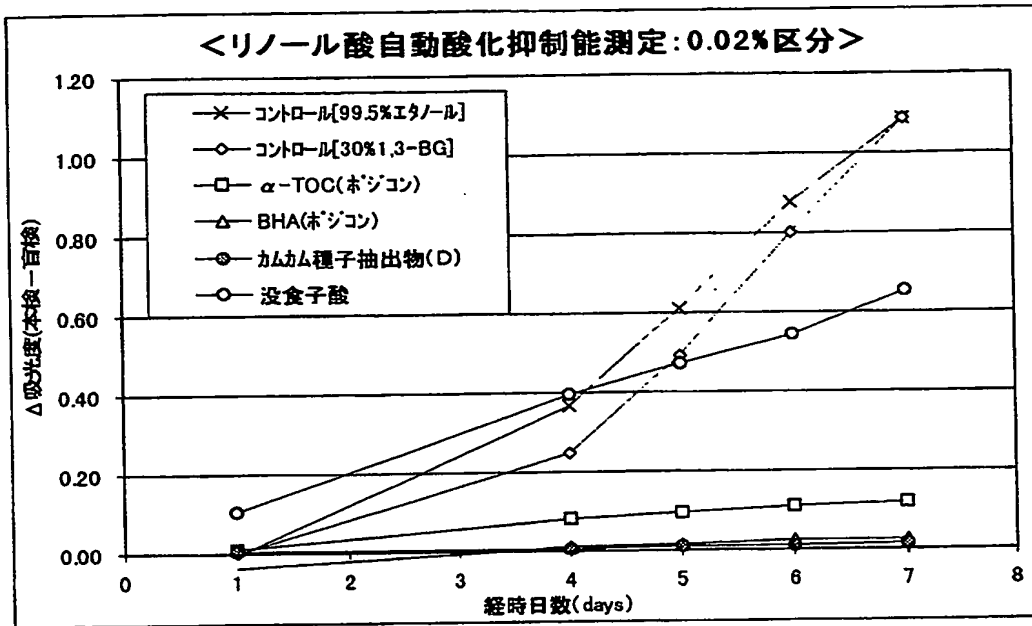
【図 1】



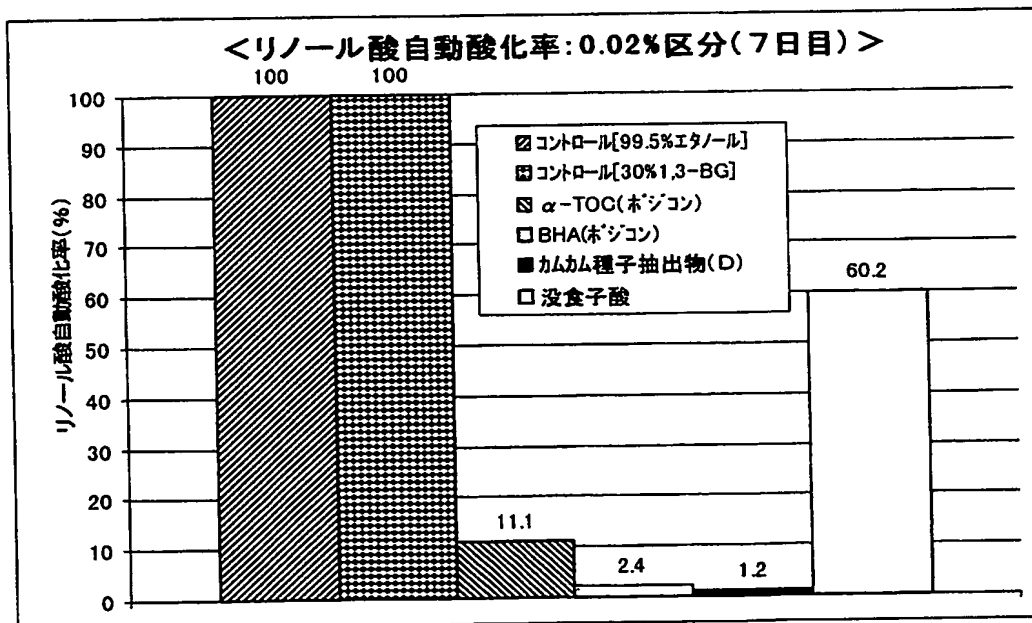
【図 2】



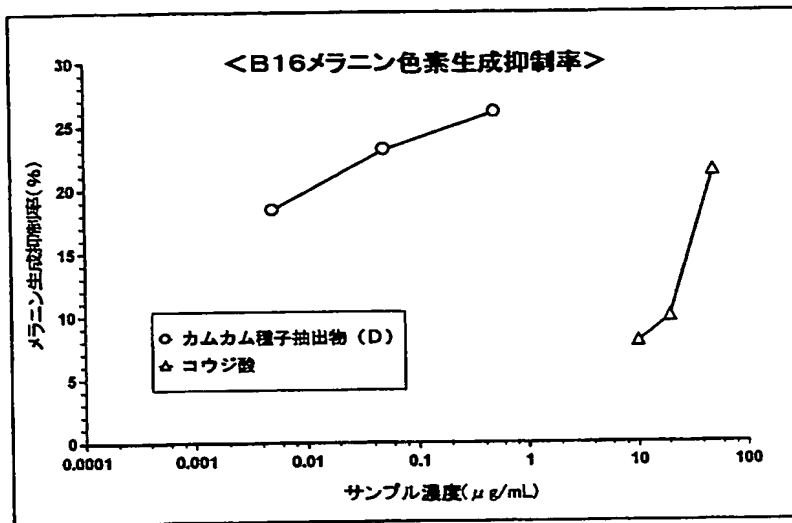
【図 3】



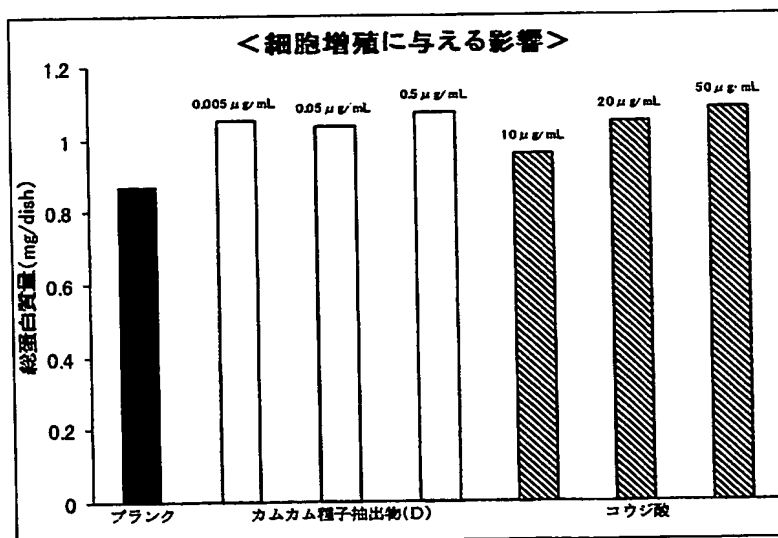
【図 4】



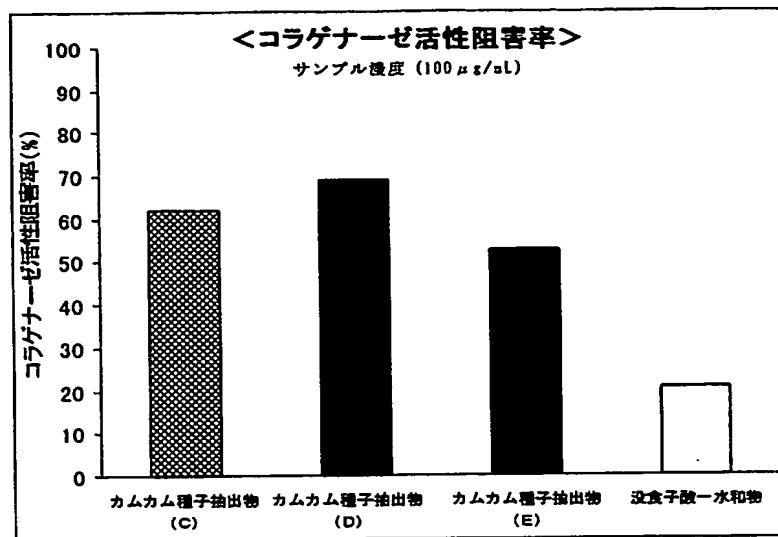
【図 5】



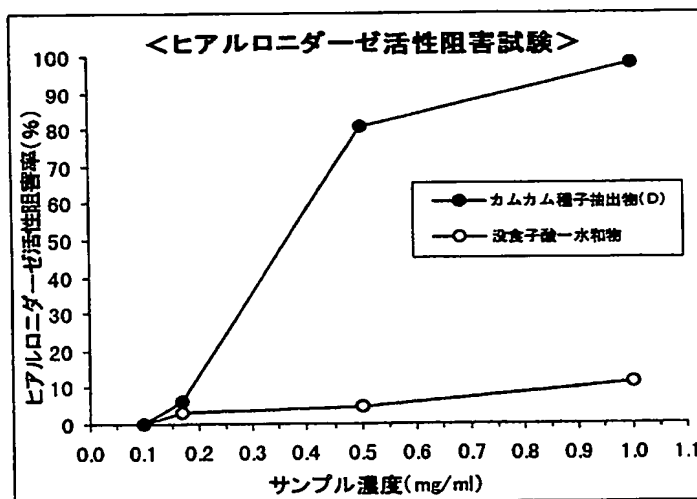
【図 6】



【図7】



【図8】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】従来、廃棄処理されていたカムカム種子の有効利用が可能となり、安全性に優れ、化粧品等に利用可能な美白作用を有する美白剤、安定した抗酸化作用を示す抗酸化剤、コラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤、老化防止剤及び該美白剤等を配合した皮膚外用剤又は化粧品、並びに該抗酸化剤を配合した食品を提供すること。

【解決手段】本発明の美白剤、抗酸化剤、コラゲナーゼ活性阻害剤、ヒアルロニダーゼ活性阻害剤又は老化防止剤は、カムカム種子の抽出物を有効成分として含み、本発明の皮膚外用剤又は化粧品は、前記美白剤等を含み、本発明の食料品は、前記抗酸化剤を含む。

【選択図】 なし

特願 2002-362507

出願人履歴情報

識別番号

[000134970]

1. 変更年月日

1991年 5月31日

[変更理由]

住所変更

住 所

東京都中央区築地6丁目19番20号

氏 名

株式会社ニチレイ